

目次

1 序論	6
1.1 研究の背景	7
1.1.1 医療におけるシミュレーションの可能性	7
1.1.2 心疾患と心筋細胞	7
1.2 従来の研究	7
1.2.1 小器官の形状の分析	7
1.2.2 強度分布を利用した小器官抽出	8
1.2.3 深層学習を利用した小器官抽出	8
1.3 研究の目的	10
1.4 本論文の構成	10
2 深層学習モデルによる心筋細胞の微細構造モデルの作成手法	11
2.1 心筋細胞	12
2.1.1 心筋細胞の微細構造	12
2.1.2 SBEM	13
2.2 深層学習	14
2.2.1 深層学習概要	14
2.2.2 深層学習におけるセグメンテーション	16
2.2.3 深層学習モデル”NeuroKube”	17
2.3 小器官抽出処理	17
2.3.1 入力画像の強度調節	18
2.3.2 教師データセットの作成	19
2.3.3 深層学習によるセグメンテーション	20
2.3.4 個体の分割処理	22
3 結果と考察	25
3.1 セグメンテーションの結果の比較	26
3.1.1 シングルラベルとマルチラベルの結果の比較	26
3.1.2 T 管の対象抽出結果	27
3.1.3 T 管の境界抽出結果	31
3.2 分割処理	35
4 結言	38
4.1 結論	39

4.2 今後の課題と展望.....	39
謝辞.....	40
参考文献.....	41

図目次

図 1.1 セグメンテーションからモデル作成までの大まかな流れ	8
図 1.2 細胞 B のミトコンドリアの 3D モデル	9
図 2.1 心筋細胞微細構造の模式図[9]	12
図 2.2 正常なマウスの心筋細胞の SEM 画像	13
図 2.3 ニューラルネットワークの仕組み	14
図 2.4 DNN の構造の一例	15
図 2.5 CNN の構造の一例	15
図 2.6 畳み込み演算の例	16
図 2.7 Max プーリングの例	16
図 2.8 心筋細胞の SEM 画像(左)とその強度分布(右)	18
図 2.9 強度調節後の心筋細胞の SEM 画像(左)とその強度分布(右)	19
図 2.10 学習用 SEM 画像(左) 対象抽出の教師画像(中) 境界抽出の教師画像(右)	19
図 2.11 結果の分類	21
図 2.12 ラベル画像と抽出結果の分類例	21
図 2.13 閾値による評価値変化の例	22
図 2.14 対象抽出画像(左) 境界抽出画像(中) 大まかな分割画像(右)	23
図 2.15 ガウスぼかし(左) 2 値化処理(中) 核の識別(右)	23
図 2.16 手書きラベル(左) 2 次元分割画像(中) 3 次元分割画像(右)	24
図 3.1 シングルラベルとマルチラベルの抽出結果.	26
図 3.2 シングルラベルの学習における損失(Loss)と学習反復回数(Iteration)の関係	27
図 3.3 正解ラベルと対象の抽出結果	28
図 3.4 334 番の画像(上)の小器官の強度分布(左下)と細胞外領域の強度分布(右下) ...	29
図 3.5 対象抽出結果の F 値と学習反復回数の関係	30
図 3.6 ミトコンドリアの対象抽出結果例(左)と筋原線維の対象抽出結果例(右)	31
図 3.7 入力画像と正解ラベルを重ねた画像	32
図 3.8 入力画像と境界の抽出結果を重ねた画像	32
図 3.9 境界抽出結果の F 値と学習反復回数の関係	33
図 3.10 境界抽出結果を分類した画像	33
図 3.11 ミトコンドリア(左), 筋原線維(中), T 管(右)の境界抽出結果を分類した画像	35
図 3.12 入力画像と分割処理結果を重ねた画像	35
図 3.13 細い T 管の例	36

図 3.14 同一個体として識別されるべき T 管(左)と抽出漏れにより別個体として識別された T 管(右)のイメージ	37
図 3.15 T 管内部の抽出漏れの例.....	37

表目次

表 1 対象抽出結果の小器官ごとの評価値	30
表 2 境界抽出結果の分類.....	33
表 3 境界抽出結果の小器官ごとの評価値	34
表 4 T 管の個数, 体積, 体積率	35

1 序論

1.1 研究の背景

1.1.1 医療におけるシミュレーションの可能性

今日までの医療の発展は専門家の医学的な知識や経験、及び統計的な手法によって支えられてきたが、パーキンソン病やアルツハイマー病など、メカニズムが解明されていない病気は未だ多く存在する。これら未解明の病気のメカニズム解明手法として、近年「シミュレーション」が注目されている。コンピュータの発展と共にシミュレーションの高精度化が実現しており、近年では人と物流のシミュレーションや災害の被害予測など幅広い範囲でのシミュレーションの実用化が進んでいる。医療の分野にもシミュレーションを取り入れ、ヒトや臓器をモデル化し数値シミュレーションすることで、未解明の病気の原因究明や予防、治療につながる事が期待される。

1.1.2 心疾患と心筋細胞

心臓は主に心筋細胞で構成されており、心筋細胞は筋原線維やミトコンドリアといった小器官で構成されている。細胞内の筋原線維が同時に収縮することで心筋細胞、さらには心臓全体が収縮して全身に血液が送り出される。正常な心筋細胞と心疾患を患った心筋細胞の微細構造について両者を比較すると、正常な心筋細胞においては小器官が整然と列状に並び、心疾患を患った心筋細胞においては小器官が特定の場所に集中し不規則な配置になる。心疾患を患った心筋細胞の形態は乱れ、生理的・力学的に機能が低下していることが知られているが[1]、心筋細胞の微細構造の形態変化と心機能の低下との間の因果関係は未だ明らかになっていない。心筋細胞を 3D モデル化しシミュレーションを行うことがこの因果関係の解明に繋がることが期待でき、さらには疾患の予防や治療への発展へ繋がる可能性があり実現が望まれている。

1.2 従来の研究

1.2.1 小器官の形状の分析

心筋細胞の小器官の形状についての研究は数多くある。

E. Rog-Zielinska[2]は、収縮、弛緩、伸長の3つの状態下において、電子顕微鏡画像を用いてミトコンドリアの形状を手書きによって抽出し、それぞれの力学的状態と形状の相関や小器官同士の相互作用について評価している。また他の細胞内小器官との関係性についても手書きの抽出結果から分析が行われている。

C. Kong[3]は蛍光プローブによる観測から心室の筋細胞におけるT管の表面積と内部体積を測定し、それらの幾何学的関係性を用いてウサギやマウスのT管の形状の抽出、管の直径、

体積、配向性を測定した。測定結果を高圧凍結試料の狭い範囲における電子トモグラフィーから測定された値と比較することで、その妥当性を確認している。

小器官の形状の分析において形状を視覚的に観測する場合は、手書きによる抽出を多数行う必要があり時間と労力を必要とするため、より広範囲の多数の細胞から小器官を抽出するには限界がある。

1.2.2 強度分布を利用した小器官抽出

手書きでの小器官の抽出の問題に取り組んだのがA. Hussain[4]である。試料表面の切片と電子顕微鏡による撮影を繰り返して作成されたSBF-SEM画像を用い、数十枚おきに手書きで小器官の輪郭を作成する。また画像内のピクセルの強度分布を作成し、手書き結果と合わせて小器官を判別と全画像に対するセグメンテーションを行っている。抽出精度は97%とよく抽出できており、手作業の抽出と比較すると少ない作業量での抽出が可能であるが、小器官ごとに明確に強度分布が分かれていることを前提としている点、また個々の小器官を集合体として抽出している点が課題である。

1.2.3 深層学習を利用した小器官抽出

田中[5]は深層学習を用いたミトコンドリアの自動抽出手法を開発した。まず深層学習モデルCDeep3M[6]を用いて電子顕微鏡画像をセグメンテーションすることでミトコンドリアを抽出した。この時学習の教師データとしてミトコンドリアの手書きの抽出画像を50枚用い、400枚の電子顕微鏡画像に対しセグメンテーションを行った。抽出によって得られた、対象の抽出画像と輪郭の抽出画像を組み合わせ画像処理を行うことでミトコンドリアの分割を行った。その後、これらの画像を三次元再構築することで実形状モデルを作成した。手書きで作成したモデルと比較をすることで正しく3Dモデルが作成されていることを確認している。このセグメンテーションから実形状モデル作成までの大まかな流れを図1.1に示す。

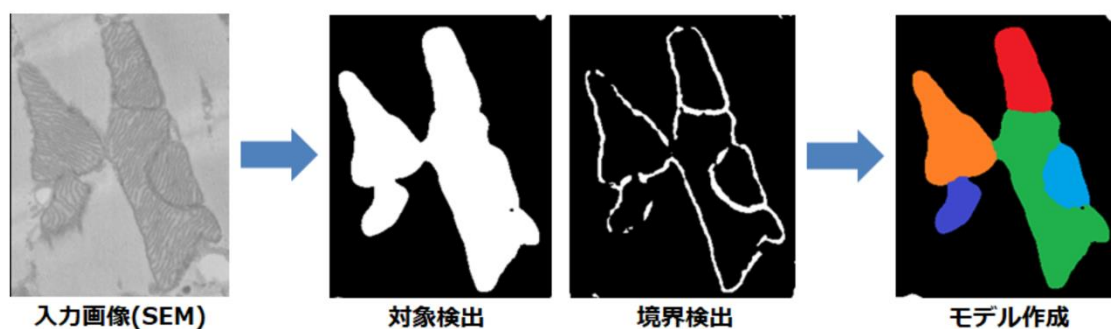


図 1.1 セグメンテーションからモデル作成までの大まかな流れ

この研究により、A. Hussain[4]の手法同様に少ない作業量での小器官抽出を可能とし、課題であった小器官ごとに強度分布に差が必要である点、個々の小器官を集合体で抽出し

てしまう点を改善できていると言える。しかし田中が用いた 400 枚の心筋細胞からなる電子顕微鏡画像(以下, 細胞 A とする)に対しては抽出精度は高かったが, 他の電子顕微鏡画像に対しては高い精度での抽出ができないという問題がある。

この汎化性能の課題を解決したのが染谷[7]である。691 枚からなる心筋細胞の電子顕微鏡画像(以下, 細胞 B とする)からミトコンドリアを手書きで抽出し教師画像を作成し, 田中が学習で用いた 50 枚の細胞 A の教師データに加えて学習, 小器官の抽出を行った。また入力画像の強度分布を調節し, 精度と汎化性能の両立を可能にした。抽出結果から図 1.2 の 3D モデルを作成し, モデル内の小器官の数や体積, ミトコンドリアを楕円球近似した際の離心率及び配向性の観点からモデルの妥当性の評価が行われ, 体積と離心率について手書きによるモデルと一致していた。

さらに小沢[8]は小器官の一つである筋原線維の自動抽出に成功した。現在までに心筋細胞の小器官の内, ミトコンドリアと筋原線維の自動抽出が可能となった。しかし心臓のシミュレーションにおいて, 小器官同士や様々な現象が相互作用することを考慮すると詳細な検討には統合的なモデル, シミュレーションが必要であり, そのためにミトコンドリアと筋原線維に加え, 横行小管がモデルに必要となる。この横行小管に関して形状の抽出, シミュレーションが数多く行われており, その一例としてとしてマウスの心筋細胞の SEM 画像から細胞膜, 筋原線維, ミトコンドリア, 横行小管, dyad を手書きで抽出したモデルが田中[5]により作成されシミュレーションが行われている。しかし横行小管の自動抽出は未だ実現しておらず, また心筋の収縮を同期させる横行小管が統合的なシミュレーションにおいて重要な役割を果たすことから横行小管の自動抽出が望まれる。

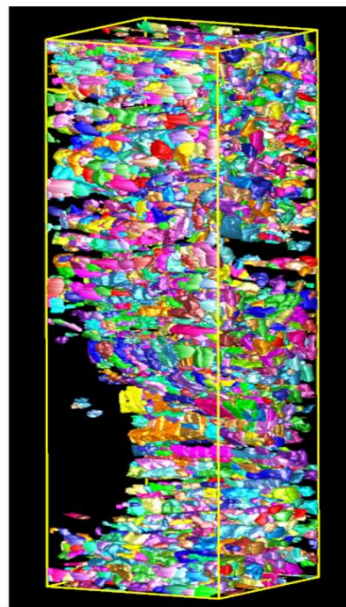


図 1.2 細胞 B のミトコンドリアの 3D モデル

1.3 研究の目的

過去の研究ではミトコンドリアと筋原線維の自動抽出が効率良く行えるようになった。しかし心臓の統合的なシミュレーションを行う上で横行小管のモデル化が必要とされ、効率的なモデル作成のために横行小管の自動抽出が必須である。

そこで本研究では深層学習を用いた、シミュレーションのための横行小管の自動抽出手法の開発を目的とする。この目的の達成し、筋原線維やミトコンドリアと合わせてモデルを作成し、シミュレーションを行うことで心筋細胞の微細構造の形態変化と心疾患の因果関係とそのメカニズムの解明に繋がることが期待される。

1.4 本論文の構成

第1章「序論」

心筋細胞の微細構造の形態変化と心機能の低下との間の因果関係をシミュレーションを用いて調査するという背景、先行研究では深層学習を用いてミトコンドリアと筋原線維を自動抽出しモデルを作成したが、統合的なシミュレーションにおいて不可欠である横行小管の抽出が望まれているという現状を述べ、それを受けて横行小管の自動抽出という本研究での目的を述べた。

第2章「深層学習モデルによる心筋細胞の微細構造モデルの作成手法」

心筋細胞の微細構造、深層学習の概要について述べ、その後小器官の抽出手法を入力画像の強度調節、教師データセットの作成、深層学習によるセグメンテーション、小器官の分割処理の4段階に分けて説明する。またセグメンテーションおよび分割処理における評価指標について述べる。

第3章「結果と考察」

深層学習の学習条件を変えた時の小器官の対象、境界の抽出結果を評価値を用いて比較し最適な学習条件を考察する。その結果を受けて分割処理、3Dモデルの作成を行い、手書きにより作成されたモデルと比較し考察を述べる。

第4章「結言」

結論と今後の展望について述べる。

2 深層学習モデルによる心筋細胞の微細構造 モデルの作成手法

2.1 心筋細胞

2.1.1 心筋細胞の微細構造

心臓は主に心筋細胞によって構成されており、成人の心臓において体積比にして約 75%、細胞数にして約 30%を心筋細胞が占める。また長さ約 $100\mu\text{m}$ 、直径約 $10\mu\text{m}$ の円柱状の形状であり、内部はミトコンドリア、筋原線維、横行小管(T 管, Transverse Tubules)、筋小胞体(SR, Sarcoplasmic Reticulum)などの小器官から構成されている。心筋細胞の周りは薄い細胞膜で覆われている。心筋細胞の微細構造の模式図を図 2.1[9]に示す。

ミトコンドリアは表面を外膜と内膜の 2 重の膜によって覆われている。細胞のエネルギー通貨であるアデノシン三リン酸(ATP, Adenosine Triphosphate)を生成し、また細胞内のカルシウムイオン(Ca^{2+})の濃度調節する役割もある。生涯休むことなく動く心臓においてはミトコンドリアが多く含まれる。

筋原線維は直径 $1\sim 2\mu\text{m}$ の円筒構造であり、サルコメアと呼ばれる収縮単位が多数繋がって構成されている。サルコメアはアクチンフィラメントとミオシンフィラメントが繰り返し連なることによって構成され、その両端は Z 帯と呼ばれる構造に固定されている。細胞内全てのサルコメアが同時に短くなることによって筋収縮が引き起こされる。

横行小管(T 管)は Z 帯付近にのみ存在し、筋原線維を取り巻くように走行している管状の小器官である。T 管は細胞膜が細胞内部に入り込んでできた構造であり、細胞内部まで同時に収縮させる役割、また細胞内外の物質輸送を簡単にする役割を持つ。

筋小胞体は筋原線維を取り囲むように発達しており、 Ca^{2+} の濃度制御を行う小器官である。筋小胞体には T 管に向かい合う Junctional SR(JSR)と Network SR(NSR)に分けられ、JSR は Ca^{2+} を SR から放出し NSR は Ca^{2+} を SR 内に回収する役割を持つ。

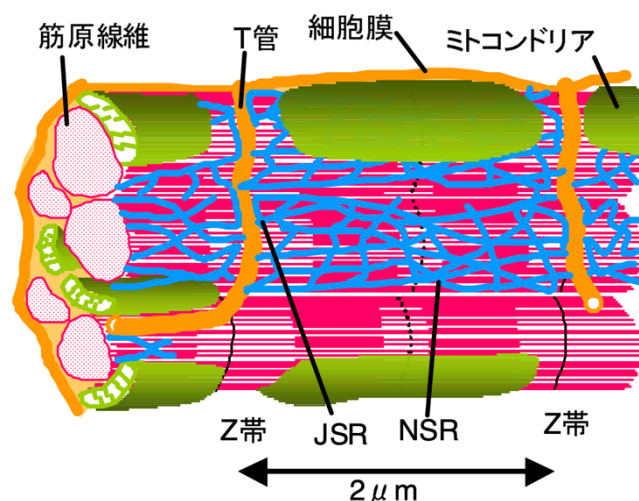


図 2.1 心筋細胞微細構造の模式図[9]

次に心筋の収縮弛緩の機構について簡単に述べる。

神経伝達物質によって筋細胞膜に活動電位が引き起こされ、この電氣的興奮が T 管、SR に伝わると SR 内の Ca^{2+} がイオンチャネルを通して細胞質に放出される。 Ca^{2+} がアクチンフィラメント上にあるトロポニンという Ca^{2+} 感受性タンパクを含む複合体に結合し、トロポニン複合体が変形すると、ミオシン頭部がアクチンフィラメントに接するのを防いでいるトロポミオシン分子の位置がわずかにずれ、ミオシン頭部がアクチンフィラメントに結合する。これによりアクチンとミオシンのフィラメントが互いに滑り込みサルコメアが短くなり筋収縮が引き起こされる。この過程を興奮収縮連関という。

神経シグナルの終了後 Ca^{2+} が NSR によって SR 内にくみ戻され、 Ca^{2+} 濃度が静止状態のレベルに戻るとトロポニンとトロポミオシンが元の位置に戻り、アクチンフィラメントへのミオシンの結合が妨害され筋線維が弛緩する。

2.1.2 SBEM

シリアルブロックフェイス走査型電子顕微鏡法(SBEM, SBF-SEM, Serial-Block-Face Scanning Electron Microscope)とは、試料表面をダイヤモンドナイフで削り表面を SEM 画像として取得する、ということを繰り返し行い断面の連続画像を取得する手法である。この連続画像をスタックし三次元に再構成することで、試料を 3D モデルとして解析することが可能である。一般的に SEM では電子プローブが照射した部分からの二次電子を検出して画像を作っており、生体試料を扱う際には試料を固定し樹脂に埋め込む前処理が必要となる。本研究で用いた正常なマウスの心筋細胞の SEM 画像を図 2.2 に示す。このデータはカリフォルニア大学サンディエゴ校(UCSD, University of California, San Diego)の星島様に提供していただいた。この画像は 4096 pixel×4096 pixel であり、1 pixel あたり 3.5 nm、厚さは 70 nm である。

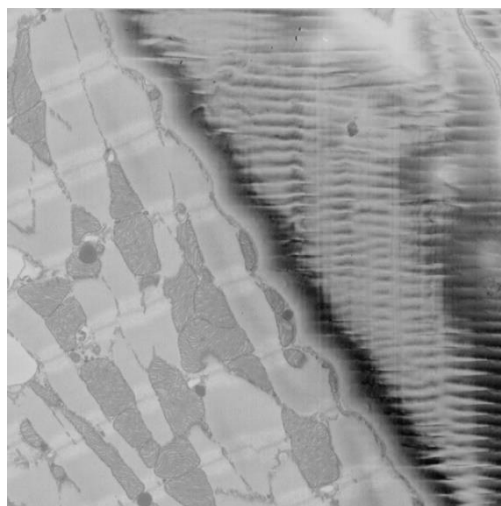


図 2.2 正常なマウスの心筋細胞の SEM 画像
カリフォルニア大学サンディエゴ校の星島様に提供していただいた

2.2 深層学習

2.2.1 深層学習概要

深層学習(Deep Learning)とは、人間の脳内の神経細胞の仕組みを再現したニューラルネットワークを多層重ねた機械学習(Machine Learning)の一つであり、画像認識や音声認識などで広く用いられている。ニューラルネットワークの仕組みを図 2.3 に示す。

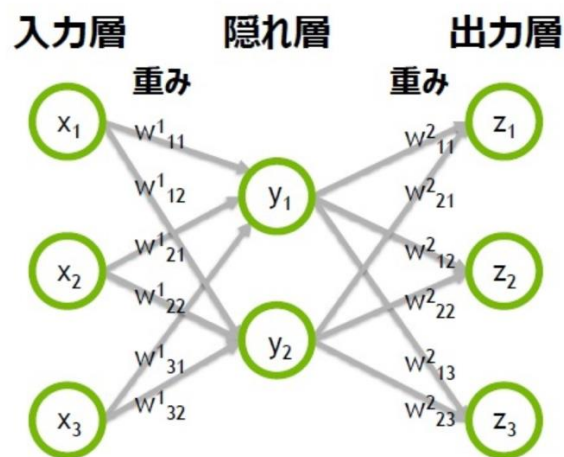


図 2.3 ニューラルネットワークの仕組み

ニューラルネットワークは入力層、隠れ層、出力層の三種類の層があり、各層のノードはエッジにより繋がっている。各エッジには重みとバイアスが設定されており、前層のノードの値と重み積とバイアスの和を活性化関数に入力して次層の各ノードの値を計算する。活性化関数にはいくつか種類があり、隠れ層で用いられるのは入力値を 0 から 1 の値に変換するシグモイド関数や、0 以上の値はそのまま出力し 0 以下の値は全て 0 として出力する ReLU(Rectified Linear Unit)関数である。出力層で用いられるものとして、回帰問題では入力値をそのまま出力する恒等関数、分類問題では出力値が 0 から 1 の値になり、各ノードの値の総和が 1 となるソフトマックス関数が用いられる。

ニューラルネットワークでの学習では教師データを用いて各エッジの重みを最適な値に更新する。その際に学習の指標として用いるのが損失関数であり、損失関数の値が小さくなるように重みの値を更新するのが学習の目的である。損失関数の例として二乗和誤差(mean squared error)や交差エントロピー誤差(cross entropy error)が挙げられる。また重みの更新にあたり誤差逆伝播法が主に用いられる。

以上で説明したニューラルネットワークの隠れ層の数を増やし深くしたものをディープニューラルネットワーク(Deep Neural Network, DNN)と呼ぶ。

この深層学習を応用したものとして畳み込みニューラルネットワーク(Convolutional Neural Network, CNN)がある。CNN は画像処理や音声認識など様々なところで使われ、

特に画像認識のコンペティションにおいて深層学習による手法のほとんどが CNN をベースにしている．以下では CNN の概要について述べる．

DNN では隣接する層の全てのノード間で結合がある全結合層が使われており，CNN では全結合層に加えて畳み込み層とプーリング層が使われる．図 2.4 では DNN の構造，図 2.5 では CNN の構造を示している．

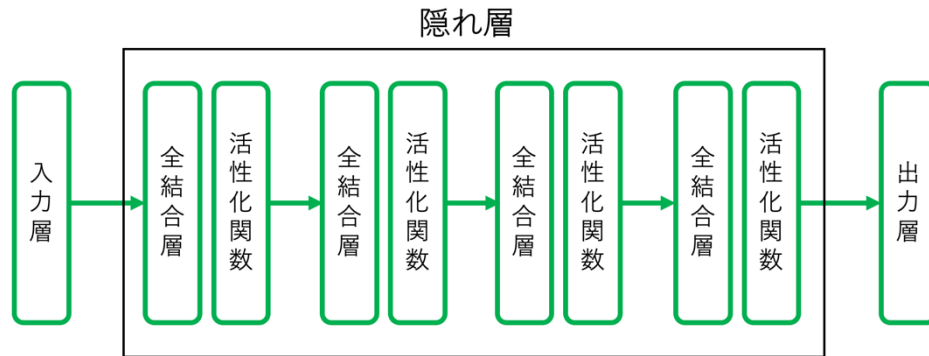


図 2.4 DNN の構造の一例

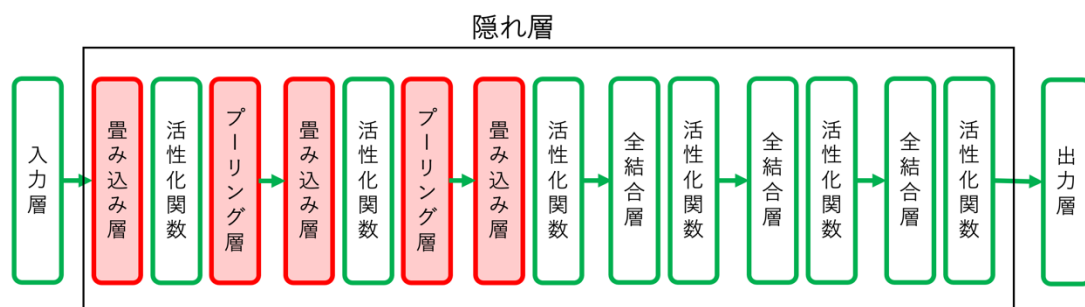


図 2.5 CNN の構造の一例

畳み込み層では畳み込み演算を行う．具体的な計算例を図 2.6 に示す．この例では入力サイズが 4×4 ，フィルターサイズが 3×3 ，出力サイズは 2×2 となる．入力データに対しフィルターを一定の間隔でスライドさせながら適用させ，それぞれの場所でフィルターの要素と入力データの対応する要素の積をとり，その総和を計算する．その結果を出力の対応する場所へ格納し，このプロセスを全ての場所で行うことで出力データを得られる．画像といった 2 次元以上の形状データを扱う際は，畳み込み演算によって空間的情報が保持されるという特徴がある．

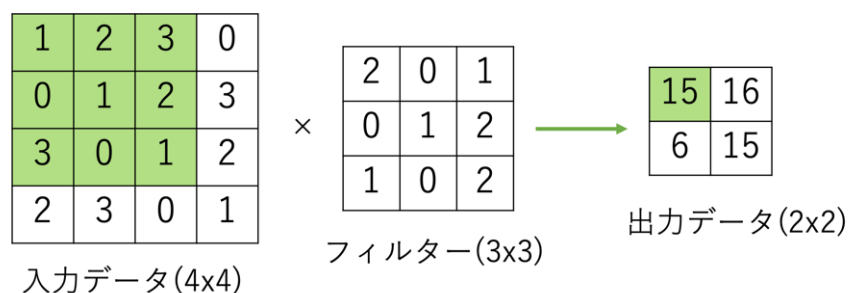


図 2.6 畳み込み演算の例

プーリング層では縦・横方向の出力サイズを小さくする演算を行う。具体的な計算例を図 2.7 に示す。この例では 2×2 の Max プーリングをストライド(フィルターが動く幅)2で行った場合であり、 2×2 は対象となる領域サイズを表す。 2×2 の領域に対して最大となる要素を取り出し、この結果を出力の対応する場所に格納する。この例では Max プーリングを行ったが、対象領域全体の平均を計算する Average プーリングもある。プーリングをすることによって計算量が減り、また入力データの小さなズレに対してのロバスト性を持つ特徴がある。

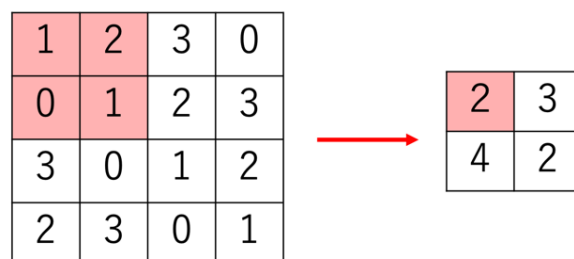


図 2.7 Max プーリングの例

2.2.2 深層学習におけるセグメンテーション

本研究では横行小管の自動抽出にあたりセグメンテーションを行う。セグメンテーションとは 픽셀単位で画像内の物体を検出し、分割または認識をする技術である。

画像認識や分割において対象の特徴、特徴量の決定をし、それを基準に画像から対象の抽出を行う。簡単な特徴量の例として輝度値が基準値より上か下かで対象を判別するというものがある。

本研究で用いる深層学習においては特徴量の決定が自動で行われる。対象が複雑になりヒトの手によって特徴量を定められない場合にこの方法が有効である。深層学習モデルが適切な特徴量を決定するためには十分な量の教師データが必要となる問題があるが、画像認識が人間より高い精度で行われたという報告も多くある。

深層学習を用いたセグメンテーションでは CNN の応用形である FCN(Fully

Convolutional Network)が用いられ、CNN での全結合層を全て畳み込み層に代えたものである。全結合層をなくすことでダウンサンプリングの出力が2次元の形状になり、それをアップサンプリング(Deconvolution, transposed convolution)することで出力が元の画像サイズと一致する。またセグメンテーションの精度を上げるためにダウンサンプリング時に出力された特徴マップをアップサンプリング時に使用する。

2.2.3 深層学習モデル”NeuroKube”

本研究では深層学習モデルの NeuroKube[10]を用いる。NeuroKube は細胞画像に特化した 3 次元再構築を自動で行うクラウドベースのフレームワークであり、マウスの神経細胞のセグメンテーション、3 次元再構築を行いセグメンテーションにおいて F 値 0.85 程度の結果を残している。NeuroKube 内の深層学習モデルは U-Net[11]をベースに作られており、通常の FCN を用いたセグメンテーションモデルに加え、Overlap-tile strategy という入力画像を拡張させる手法や、Elastic deformations という入力画像をゆがませて教師数を増やすデータオーギュメンテーション(Data Augmentation)の一種が使われているのが特徴である。本研究ではこの NeuroKube のワークフロー内にある深層学習モデルを用いて心筋細胞の細胞内小器官のセグメンテーションを行う。NeuroKube を用いる理由は以下の通りである。

先行研究で用いられていた CDeep3M[6]は 1 種類の小器官のみを抽出する、シングルラベルのセグメンテーションを行う深層学習モデルであったが、本研究で用いる深層学習モデルでは同時に複数の種類の小器官を抽出するマルチラベルのセグメンテーションが実装されている。先行研究においてシングルラベルのセグメンテーションでは対象の小器官が小さい場合、すなわち対象以外が画像において支配的な場合に抽出精度が落ちるという問題があり、画像において割合の小さい T 管の抽出を精度良くできなかった。これは CNN の畳み込み演算では小領域の特徴が消えやすいために起こると考えられる。本研究ではマルチラベルのセグメンテーションを行うため、画像内で T 管以外の小器官である確率の高い領域では T 管の抽出確率が低くなり、結果 T 管の誤抽出が減り抽出精度の改善が期待される。また他の小器官の情報が T 管の特徴としても扱われるため、畳み込み演算後も T 管の特徴が残り抽出精度の向上が期待される。

2.3 小器官抽出処理

小器官抽出処理は田中[5]の手法に準じ、以下の手順で行う。

1. 入力画像の強度調節
2. 教師データセットの作成
3. 深層学習によるセグメンテーション
4. 小器官分割処理

2.3.1 入力画像の強度調節

本研究では 400 枚からなる正常なマウスの心筋細胞の SEM 画像を用いる。以下ではこの SEM 画像を細胞 A と呼ぶ。

細胞 A において、撮影環境の差から途中で画像全体または一部において強度分布が変化していることがあった。この影響を小さくするための入力画像の強度調節は染谷[7]と小沢[8]によって行われた。

心筋細胞の SEM 画像は図 2.8 のように強度に 2 つのピークを持ち、1 つ目のピークはミトコンドリア、2 つ目のピークは筋原線維によるものである。各画像間の強度分布の差を小さくするために 70 枚の学習用画像のピーク位置の平均値を計算し、以下の式に従って入力画像のピーク位置がその平均値に合うように強度分布を調節した。 x は変更前の入力画像の画素値、 x' は変更後の入力画像の画素値、 $P1$ 、 $P2$ は学習用画像の 1 つ目のピーク位置の平均値と 2 つ目の平均値、 $p1$ 、 $p2$ は入力画像の 1 つ目のピーク位置の平均値と 2 つ目の平均値である。図 2.9 は強度調節例を示している。

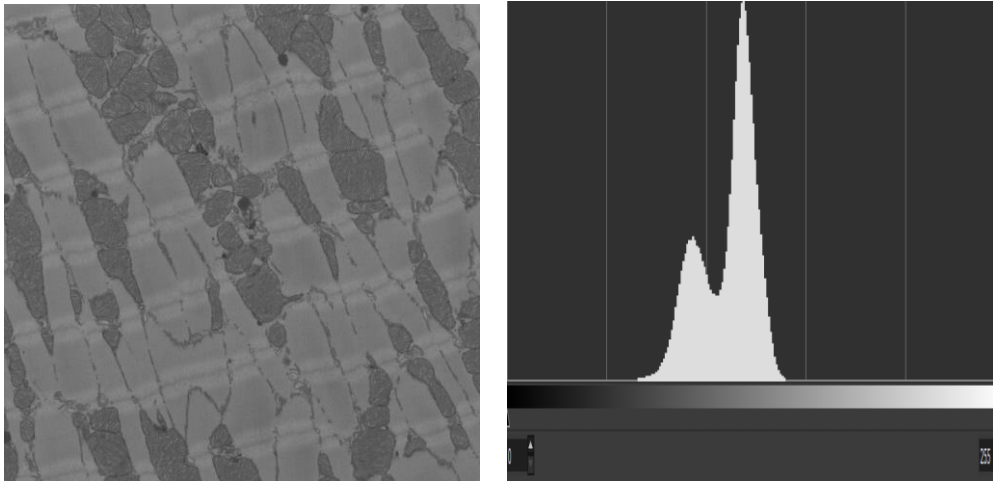


図 2.8 心筋細胞の SEM 画像(左)とその強度分布(右)

$$\begin{cases} 0 \leq x \leq p1 : x' = x \times \frac{P1}{p1} \\ p1 < x \leq p2 : x' = P1 + (x - p1) \times \frac{P2 - P1}{p2 - p1} \\ p2 < x \leq 255 : x' = P2 + (x - p2) \times \frac{255 - P2}{255 - p2} \end{cases} \quad (2.1)$$

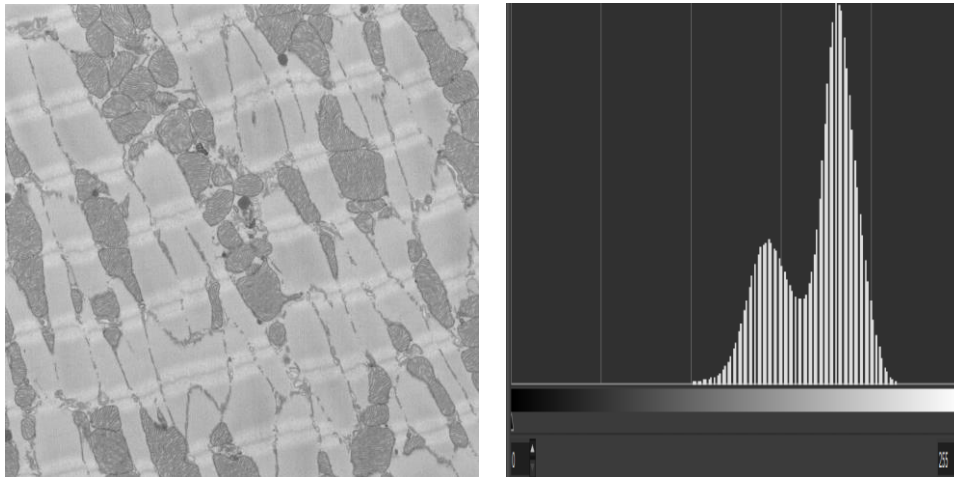


図 2.9 強度調節後の心筋細胞の SEM 画像(左)とその強度分布(右)

2.3.2 教師データセットの作成

細胞 A の SEM 画像を学習用の画像として用い、SEM 画像内のミトコンドリア、筋原線維、横行小管を手書きで抽出したものを教師用の画像として用いる。小器官の輪郭をなぞったものを境界抽出の教師とし、輪郭の内部を白、それ以外を黒としたものを対象抽出の教師とした。図 2.10 ではデータセットの一例を示している。ただし下の図ではわかりやすくするためミトコンドリアを緑、筋原線維を青、T 管を赤としている。

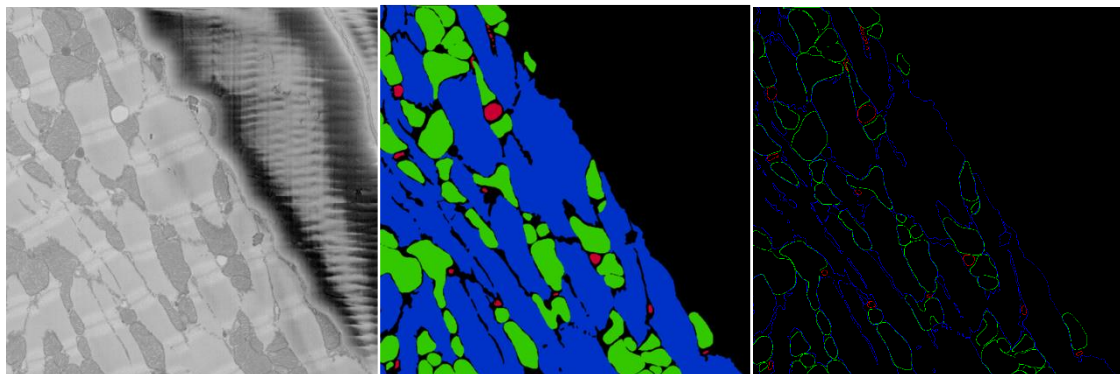


図 2.10 学習用 SEM 画像(左) 対象抽出の教師画像(中) 境界抽出の教師画像(右)

400 枚の SEM 画像の中の 200 番目から 234 番目の連続した 35 枚を教師データセットとしている。SEM 画像は提供していただいた時は 4096 pixel×4096 pixel だったが学習時間の短縮のため 1024 pixel×1024 pixel にサイズ変更をしている。

本研究では T 管に加えミトコンドリアと筋原線維も同時に抽出するため、教師データにおいて異なる小器官を識別するため小器官ごとに画素値を変えており、ミトコンドリアを 1、筋原線維を 2、T 管を 3、それ以外を 0 としている。

2.3.3 深層学習によるセグメンテーション

学習条件

NeuroKube[10]の深層学習モデルを用い T 管の抽出を行うに際し、以下のことを行う。

1. マルチラベルセグメンテーション使用の妥当性の確認
2. T 管の対象抽出
3. T 管の境界抽出

3D モデルの完成度は小器官のセグメンテーション結果に強く依存するため、抽出精度が向上するように学習条件を慎重に選ぶ必要がある。学習条件として教師データセット数、教師のラベル数、学習反復回数が挙げられるが、本研究では学習反復回数に注目して学習を進める。以下ではそれぞれの学習条件について具体的に述べる。

1 ではシングルラベルのセグメンテーションによる T 管の対象抽出とマルチラベルによる対象抽出とを比較し抽出精度に差が出るかの評価をする。T 管のみのラベルと、T 管、ミトコンドリア、筋原線維のマルチラベルを 35 枚ずつ教師データセットとして用いる。

2, 3 では T 管の対象抽出、および境界抽出を行う。ミトコンドリア、筋原線維、T 管の 3 ラベルの教師データセットを 35 枚ずつ用い、適切な学習反復回数を模索し学習を行う。対象抽出では T 管全体を抽出、境界抽出では T 管と他の小器官の境界を抽出し、後述の分割処理において対象抽出での T 管を個体ごとに識別するために境界抽出の結果を用いる。具体的な学習反復回数について、対象抽出においては学習反復回数を 0 回から最大 70000 回まで増やし、それぞれの抽出結果を後述の評価値を用いて評価する。その際評価する画像として、教師データとして用いた画像と類似していないものも選ぶようにする。これは教師データに過度に適応し他のデータへの汎用性がないモデルを検出するためである。また境界抽出においては学習反復回数を 0 回から最大 20000 回まで増やし対象抽出と同様に評価を行う。以上の評価により最適な学習反復回数を選び、その学習条件での抽出結果を後述の分割処理で用いることとする。

評価指標

セグメンテーションの結果は白黒画像として出力され、ピクセルごとに結果が真陽性(TP, True Positive), 偽陽性(FP, False Positive), 真陰性(TN, True Negative), 偽陰性(FN, False Negative)の 4 種類のいずれかに分類される。TP は正のピクセルを正と正しく判断した場合, FP は負のピクセルを正と間違えて判断した場合, TN は負のピクセルを負と正しく判断した場合, FN は正のピクセルを負と間違えて判断した場合である。図 2.11 は 4 通りの結果をまとめたものであり、図 2.12 は分類の例となるラベルと出力結果である。

	正解が正	正解が負
予測結果が正	TP: True Positive	FP: False Positive
予測結果が負	FN: False Negative	TN: True Negative

図 2.11 結果の分類

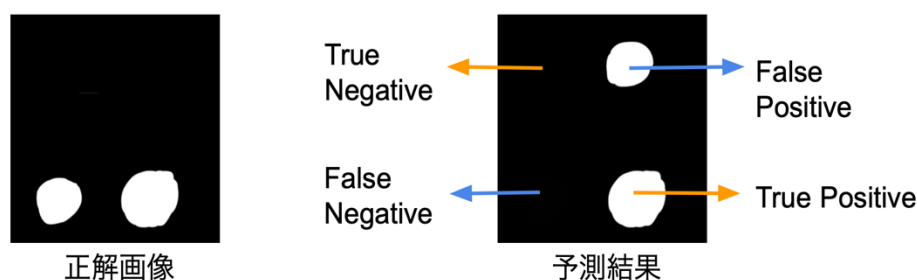


図 2.12 ラベル画像と抽出結果の分類例

以上 4 通りの結果に基づいて評価指標を定める．本研究では再現率(Recall)，適合率(Precision)，F 値(F-score)，IoU(Intersection Over Union)を使用する．各評価指標の式を以下に示す．

$$Recall = \frac{TP}{TP + FN} \quad (2.2)$$

$$Precision = \frac{TP}{TP + FP} \quad (2.3)$$

$$F - score = \frac{2TP}{2TP + FP + FN} \quad (2.4)$$

$$IoU = \frac{TP}{TP + FP + FN} \quad (2.5)$$

再現率は抽出すべき部分のうち正しく取れた割合であり，抽出の見逃しを検知する．適合率は抽出した部分のうちの正しかった割合であり，誤抽出を検知する．この 2 つはトレードオフの関係にあり，再現率は FP が低いこと，適合率は FN が低いことを保証していない．これら 2 つの指標の内容を含むのが F 値であり，再現率と適合率の調和平均をとった指標である．また IoU は抽出すべき部分と抽出した部分の内の，正しく抽出した割合である．F 値は抽出すべき部分が抽出されているかを評価し，IoU は輪郭の抽出もれや抽出のはみ出しを厳密に評価するという違いがある．

閾値の設定

セグメンテーションの結果は画素値が 0 から 255 の確率分布によって与えられ、画素値が大きいほど対象の小器官の存在確率が高い。この結果を白黒画像のラベルと比較することにより抽出精度の評価を行うため、出力画像を 2 値化処理する必要がある。2 値化処理に際ししきい値を決める必要があるが、閾値によって評価値が変化する。その例を図 2.13 に示す。横軸が閾値、縦軸が評価値であり、図中の青い線が F 値(F-score)、赤い線が再現率 (Recall)、黄色い線が適合率(Precision)を表し、緑色の点が F 値の最大となる点である。

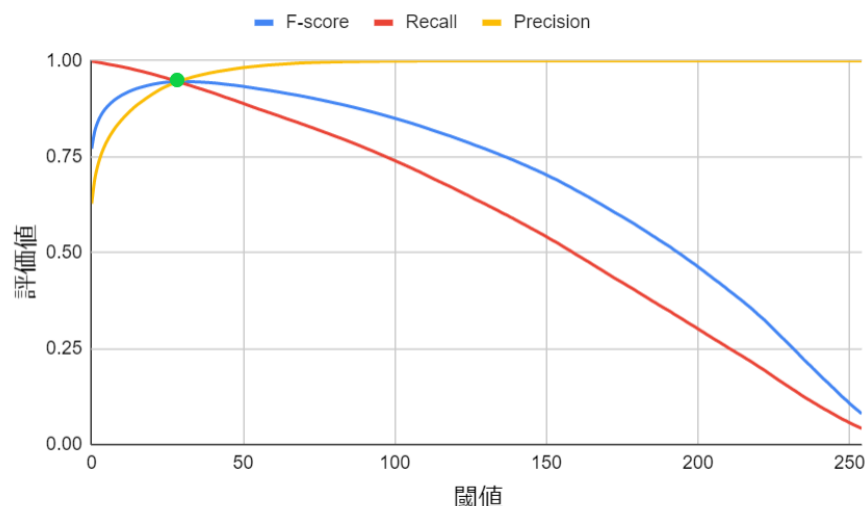


図 2.13 閾値による評価値変化の例

図のように出力画像を 2 値化処理するための閾値を 0~255 に変化させ、F 値が最大となる閾値を決定する。この計算を評価用ラベルの枚数分行い、それらの閾値の平均を全体の閾値として用いる。ただし評価用ラベルには教師データとして用いていないものを使用する。

2.3.4 個体の分割処理

分割手法

小器官の対象抽出、境界抽出後に小器官を個体ごとに分割する。分割処理は田中[5]の手法に準じて行う。分割処理は大まかな分割画像の作成、核の抽出、核の識別、核の膨張、3 次元での処理の 5 段階に分かれている。

まず図 2.14 に示すように対象抽出画像と境界抽出画像の差をとることで大まかな分割画像を作成する。

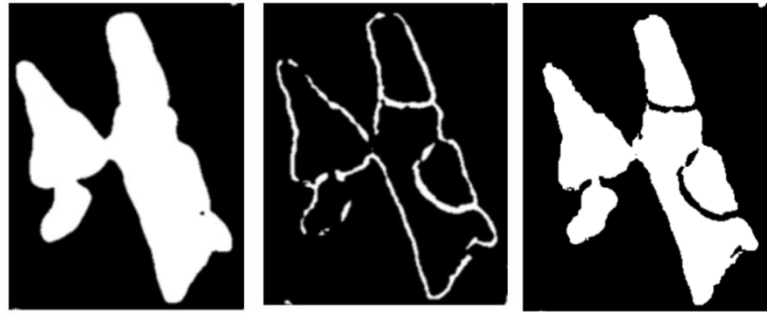


図 2.14 対象抽出画像(左) 境界抽出画像(中) 大まかな分割画像(右)

大まかな分割画像の作成後、その画像から完全に分離された核を抽出する。まず図 2.15(左)に示すようにガウスぼかし(ガウシアンぼかし, Gaussian Blur)を画像に対し適用する。ガウスぼかしとは画像の平滑化手法の一つであり、以下にガウスぼかしの重み付けの式示す。

$$G(x, y, \sigma) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}} \quad (2.6)$$

e はネイピア数, x, y は対象の画素からの距離, σ はガウス係数であり、この式によって畳み込み演算用のフィルタを作成して畳み込むことで平滑化がされる。

ガウスぼかし適用後の画像に 2 値化処理を適用し、図 2.15(中)のように画素値が 255 であるピクセルのみが残るようにする。

核の抽出後、ラスタスキャンで白いピクセルを探し、見つけた場合はマークをつけ隣り合う白いピクセル全てにマークを膨張させる。この処理を繰り返すことで核ごとにマークをつけ図 2.15(右)のように核の識別を行う。



図 2.15 ガウスぼかし(左) 2 値化処理(中) 核の識別(右)

その後対象抽出結果に識別によるマークを重ね、それぞれのマークを膨張させ核がぶつかった部分を黒くすることで小器官が分割される。ここまでのプロセスに z 軸方向の情報を付け加えることで 3 次元に拡張し、2 次元における余分な分割を修正することができる。以上の処理によって得られた分割画像の輪郭を重ねることで 3 次元のモデルを作成する。

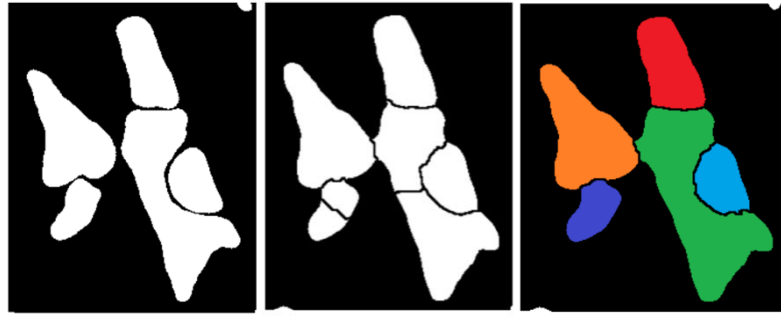


図 2.16 手書きラベル(左) 2次元分割画像(中) 3次元分割画像(右)

評価指標

分割処理後に T 管の 3D モデルを作成し、そのモデルを T 管の個体数、体積、体積率の点から評価する。また先行研究と比較するため細胞 A の 400 枚の画像の内、153 番から 332 番までの画像を使いモデルを作成する。

3 結果と考察

3.1 セグメンテーションの結果の比較

3.1.1 シングルラベルとマルチラベルの結果の比較

NeuroKube を用いた T 管のみのシングルラベルのセグメンテーション結果と、ミトコンドリア, 筋原線維, T 管でのマルチラベルセグメンテーションの T 管抽出の結果を図 3.1 に示す. 図 3.1 は入力画像と正解ラベルを重ねた画像と, 入力画像とセグメンテーションの結果を重ねたもので, 正解ラベルのピンク色の部分が T 管の存在する領域, 抽出結果の緑色の領域が T 管と予測された部分でありその色が濃いほど抽出確率が高い. 図は順に正解ラベル, シングルラベルの学習反復回数 20000 回の結果, またマルチラベルの学習反復回数 20000 回の結果である. また図 3.2 にシングルラベルの学習における損失と学習反復回数のグラフを示す. 横軸が学習反復回数(Iteration), 縦軸が学習の損失(Loss)である.

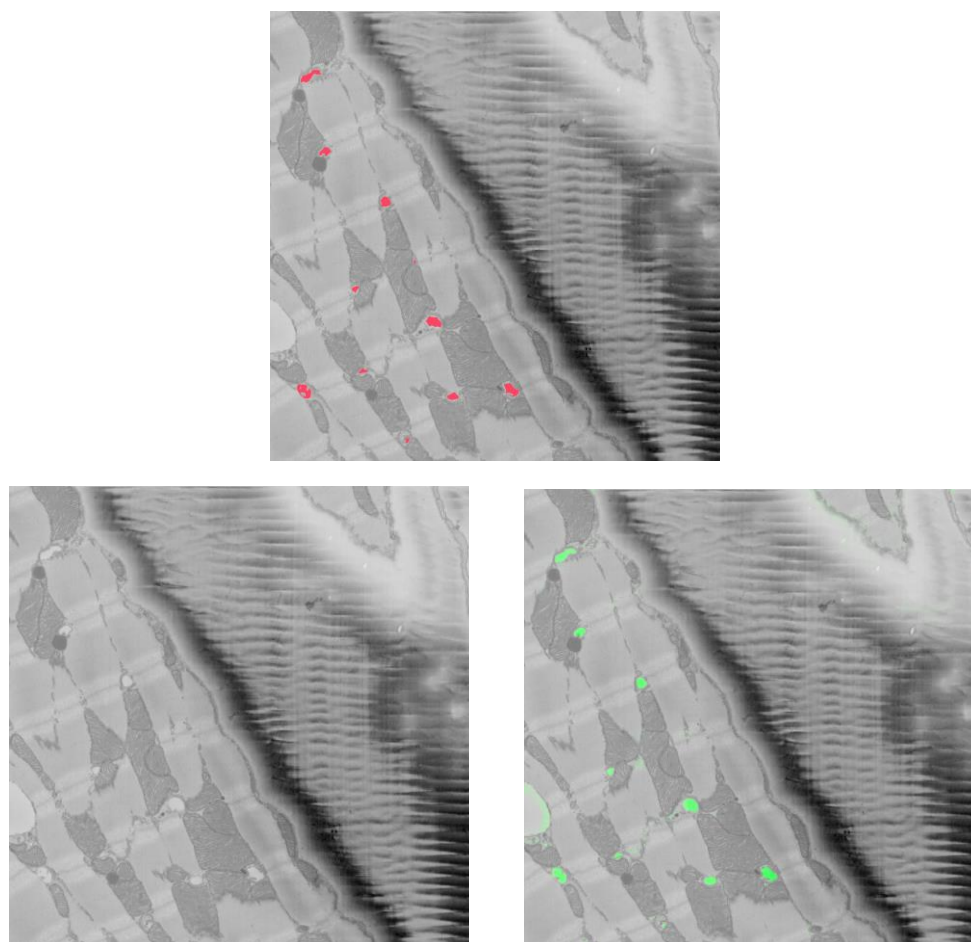


図 3.1 シングルラベルとマルチラベルの抽出結果.

それぞれ入力画像と正解ラベル, 入力画像とセグメンテーション結果を重ねた画像. 正解ラベルのピンク色の部分が T 管の存在する領域, 抽出結果の緑色の領域が T 管と予測された部分でありその色が濃いほど抽出確率が高い. 順に正解ラベル(上), シングルラベルの学習反復回数 20000 回の抽出結果(左下), マルチラベルの抽出結果(右下).

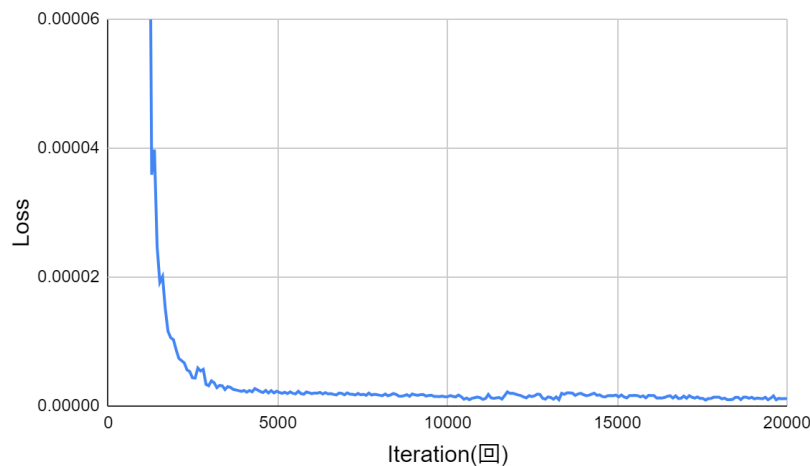


図 3.2 シングルラベルの学習における損失(Loss)と学習反復回数(Iteration)の関係

ここでの損失とは学習においてモデルの重みを更新する際の指標であり、この値が小さくなるように重みを更新する。損失が小さくなり一定値付近に収束することは、学習によって重みがある適切な値に更新し終えたことを意味する。

図 3.1 を見るとシングルラベルでは緑色の領域がなく、T 管が全く抽出できていないことがわかる。対してマルチラベルでは正解ラベルと比較すると T 管が概ね抽出されていることがわかる。また図 3.2 を見るとシングルラベルでは学習反復回数が約 5000 回で損失が 10^{-6} 乗のオーダーで収束していることがわかる。以上のようにシングルラベルでは損失が十分小さい値に収束しているにも関わらず T 管が適切に抽出されていない。この原因は損失の計算の方法にあると考えられる。損失は教師データと出力結果との差から算出され、その際 T 管と T 管以外の 2 クラスが同時に計算されている。つまり損失を小さくする目的が T 管と T 管以外の両方を含めた抽出結果を良くすることにある。しかし画像中において T 管以外のクラスが支配的であるため、抽出結果において T 管が正しく抽出できていなくても T 管以外のクラスが正しく抽出できていれば損失が小さくなる。そのため損失が小さい値に収束しても T 管が適切に抽出されない、ということが起きると考える。

3.1.2 T 管の対象抽出結果

NeuroKube のマルチラベルセグメンテーションにおける T 管の抽出結果を以下に示す。図 3.3 の上段は入力画像とその正解ラベルを重ねた画像である。2.3.2 で述べた通り、教師データセットとして画像番号 200 番から 234 番までの連続した 35 枚の画像を用いており、図 3.3 の上段左のラベルは画像番号 242 番で教師から近い層の画像、上段右のラベルは 334 番で教師から遠い層の画像である。中段と下段では入力画像と学習反復回数が 20000 回、70000 回のセグメンテーション結果を重ねたものを示す。順に中段が反復回数 20000 回の 242 番、334 番の抽出結果、下段が反復回数 70000 回の 224 番、334 番の抽出結果である。

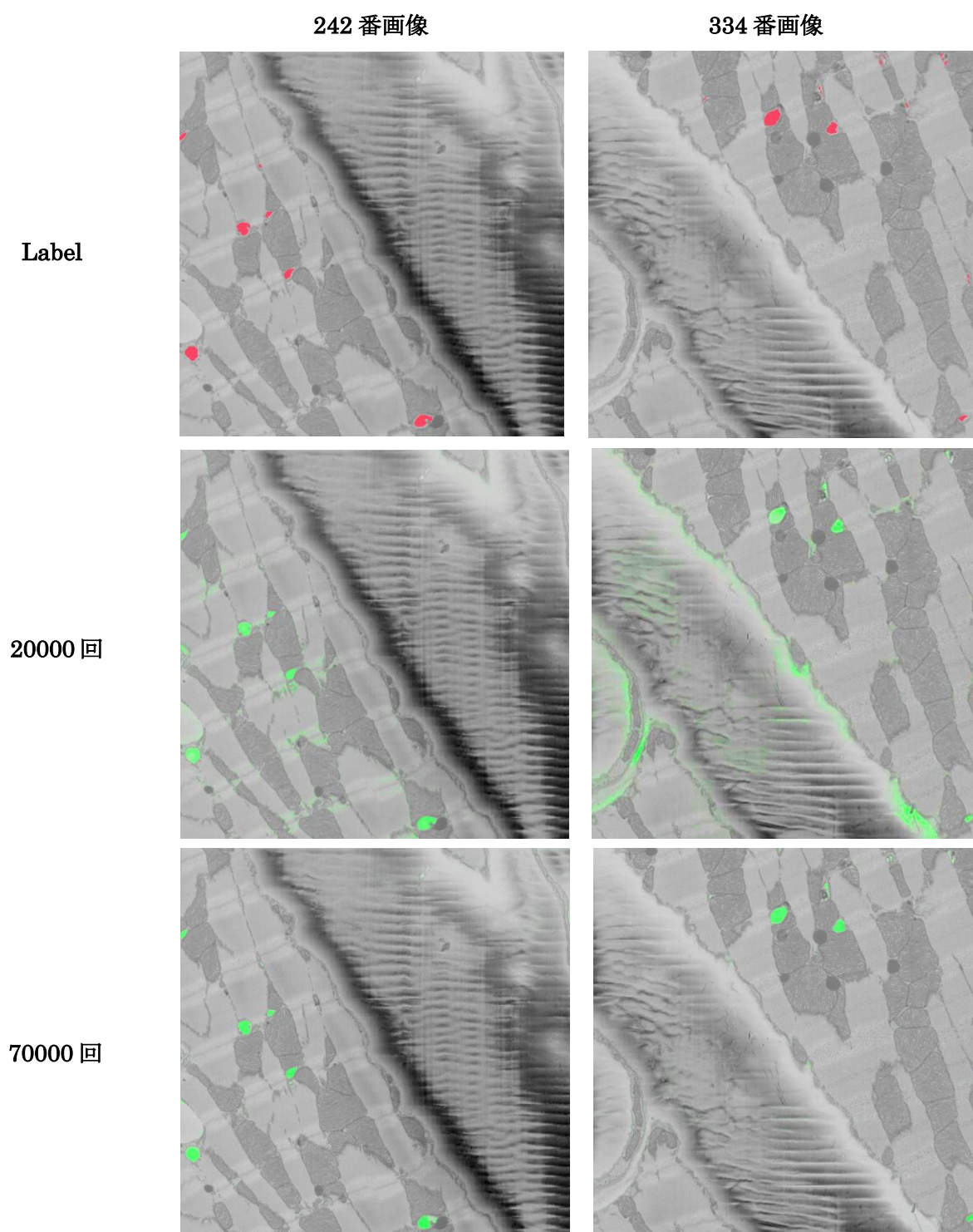


図 3.3 正解ラベルと対象の抽出結果

それぞれ入力画像と正解ラベル，入力画像と抽出結果を重ねている．順に 242 番(上段左)，334 番の(上段右)の正解ラベル，反復回数 20000 回の 242 番(中段左)，334 番(中段右)，70000 回の 242 番(下段左)，334 番(下段右)の対象抽出結果

図 3.3 の 242 番の結果を見ると 20000 回の結果では Z 帯での誤抽出が少し見られるが、両方の結果とも T 管がよく抽出されていることが見て取れる。334 番は 20000 回では細胞外領域における誤抽出、また T 管内部の抽出漏れが見られ、対して 70000 回では誤抽出や抽出漏れがないことがわかる。その原因として T 管と細胞外領域の強度分布が似ているということが考えられる。図 3.4 に小器官と細胞外領域の強度分布を示す。SEM 画像中の緑の領域の強度分布が図 3.4 の左下の図、赤の領域の強度分布が右下の図である。

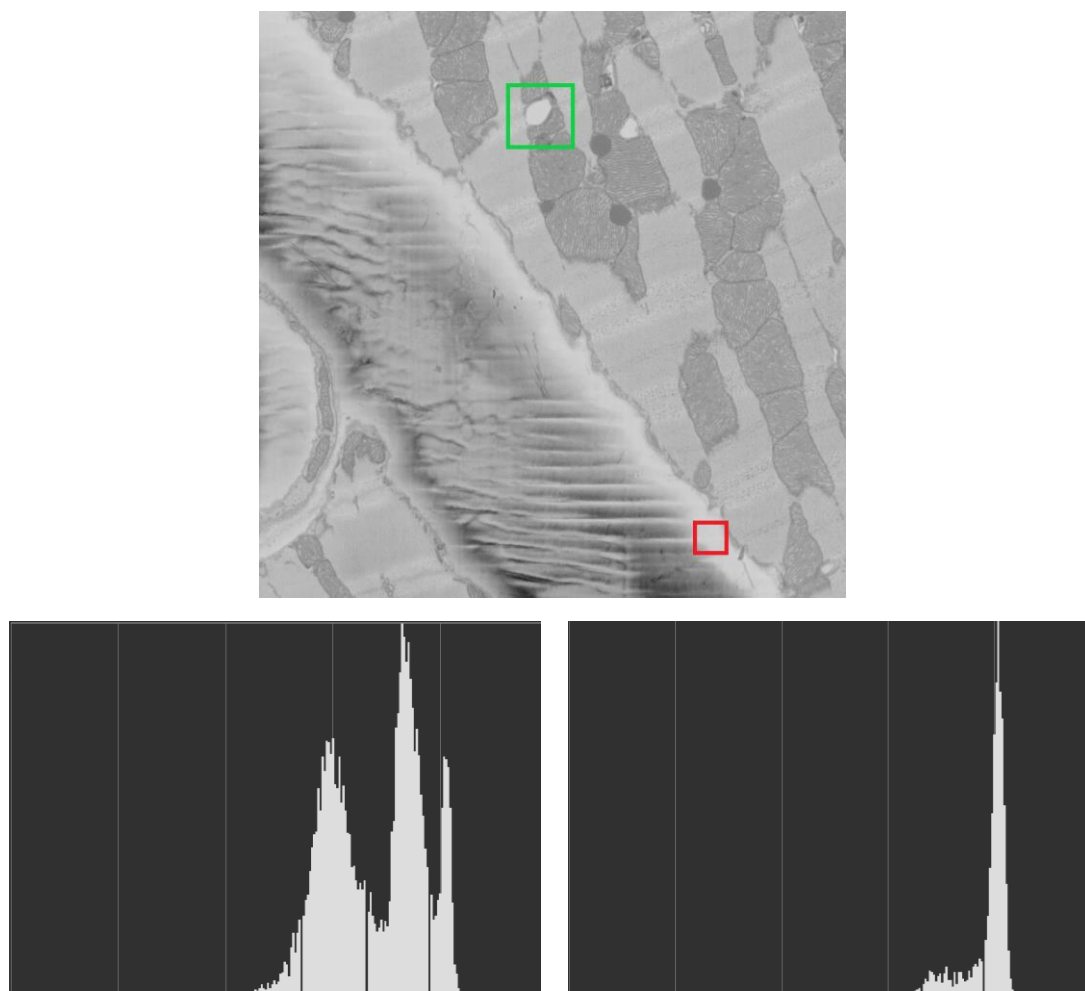


図 3.4 334 番の画像(上)の小器官の強度分布(左下)と細胞外領域の強度分布(右下)

左図において分布のピークが 3 つあり、左からミトコンドリア、筋原線維、T 管のピークである。T 管のピークは画素値で 200 から 215 の間にあり、右図の細胞外領域のピークも同様に 200 から 215 の間にある。そのため学習が浅い段階では画素値が似ている細胞外領域を T 管と誤認識し、逆に T 管を細胞外領域と誤認識するため T 管の誤抽出や抽出漏れが起きると考えられる。

また 242 番と 334 番の 20000 回の結果を比べると 334 番の方が誤抽出が多く、特に細胞外領域での誤抽出が多いことがわかる。教師から近い層の 242 番は教師画像と類似してい

るため 20000 回でよく抽出できるようになるが、教師から遠い層の 334 番は教師画像と類似していないため誤抽出が多くなったと考えられる。しかし NeuroKube ではデータオーギュメンテーション(Data Augmentation)という教師数を増やす技術が用いられているため、学習回数を重ねるごとに教師から遠い画像における抽出精度も向上し 334 番の画像も 70000 回では抽出精度が高くなったと考えられる。学習反復回数と F 値のグラフを図 3.5 に示す。縦軸が各結果の最大となる F 値の平均値(F-score)、横軸が学習反復回数(Iteration)であり、グラフ上の青い線は教師から近い層の画像における結果、赤い線は教師から遠い層の画像における結果である。

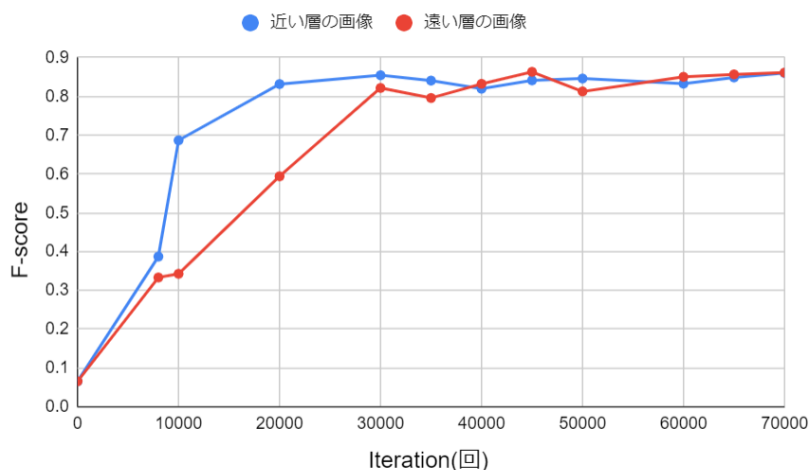


図 3.5 対象抽出結果の F 値と学習反復回数の関係

図 3.5 から教師に近い画像では反復回数が 20000 回で F 値は 0.8 を超え、それ以降は 0.8 から 0.9 の間に収束しているが、教師に遠い画像では 30000 回で F 値が 0.8 に到達しており近い画像より遅れて F 値が上昇、収束していることがわかる。図 3.5 では遠い画像として 327 番と 334 番の画像を評価したが、他の遠い画像ではさらに遅れて評価値が上昇する可能性があること、また反復回数 70000 回で過学習による評価値の低下が見られないことから今回は反復回数 70000 回の結果を分割処理で用いることとする。

表 1 に学習反復回数 70000 回の小器官ごとの抽出結果の評価値を示す。再現率, 適合率, F 値, IoU のそれぞれの平均値で評価し、加えて先行研究[5]における評価値を示す。ただし先行研究において IoU のデータはなかった。

表 1 対象抽出結果の小器官ごとの評価値

	再現率	適合率	F 値	IoU
ミトコンドリア	0.913	0.944	0.928	0.866
筋原線維	0.919	0.820	0.865	0.769
T 管	0.865	0.845	0.855	0.750
先行研究[5]	0.967	0.922	0.948	N/A.

表 1 について小器官ごとの結果を比較するとミトコンドリアは他の小器官よりよく抽出できていることがわかるが、先行研究と比べ再現率が 0.05 程度低くなっており、結果 F 値も先行研究より下回っている。この主な原因としてミトコンドリア内部の抽出漏れが考えられ、その例を図 3.6(左)に示す。ミトコンドリアは外膜と内膜を持ち、膜内部と膜の画素値が異なるため抽出漏れが起きると考えられる。

また筋原線維の評価値についてミトコンドリアと比べ適合率が大幅に低くなっている。その理由として細胞外領域での誤抽出が多いことが挙げられ、その例を図 3.6(右)に示す。図中の赤い丸がある領域は細胞外であるがその領域も筋原線維として抽出しており、このため適合率が大幅に低下し F 値や IoU も低下した。これは細胞外領域と筋原線維の両方の強度分布が 170 から 195 の間にあることが原因のひとつと考えられる。

また T 管の評価値がミトコンドリアと比べ低い理由として画像中で T 管の総面積が小さいことが考えられる。正解ラベルとして用いた 1024pixel×1024pixel の画像中にミトコンドリアは 15%程度、筋原線維は 30%程度含まれているのに対し、T 管は 0.3%程度しか含まれておらず T 管ひとつ分の誤抽出や抽出漏れが評価値を大幅に下げると考えられる。

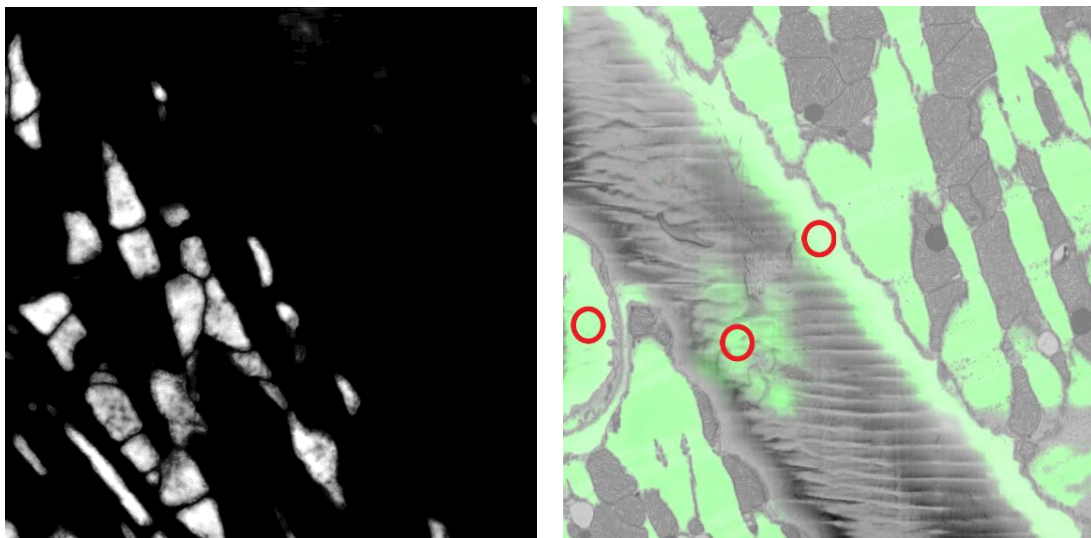


図 3.6 ミトコンドリアの対象抽出結果例(左)と筋原線維の対象抽出結果例(右)

3.1.3 T 管の境界抽出結果

NeuroKube のマルチラベルセグメンテーションにおける T 管の境界の抽出結果を以下に示す。図 3.7 は入力画像とその正解ラベルを重ねたものでピンク色の領域が T 管の境界であり、図 3.8 は順に学習反復回数が 4000 回、20000 回のセグメンテーション結果と入力画像を重ねたものである

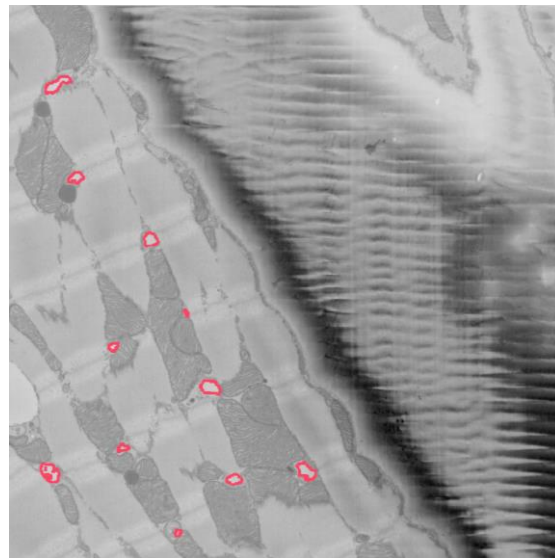


図 3.7 入力画像と正解ラベルを重ねた画像
ピンク色の部分が T 管の境界を示す.

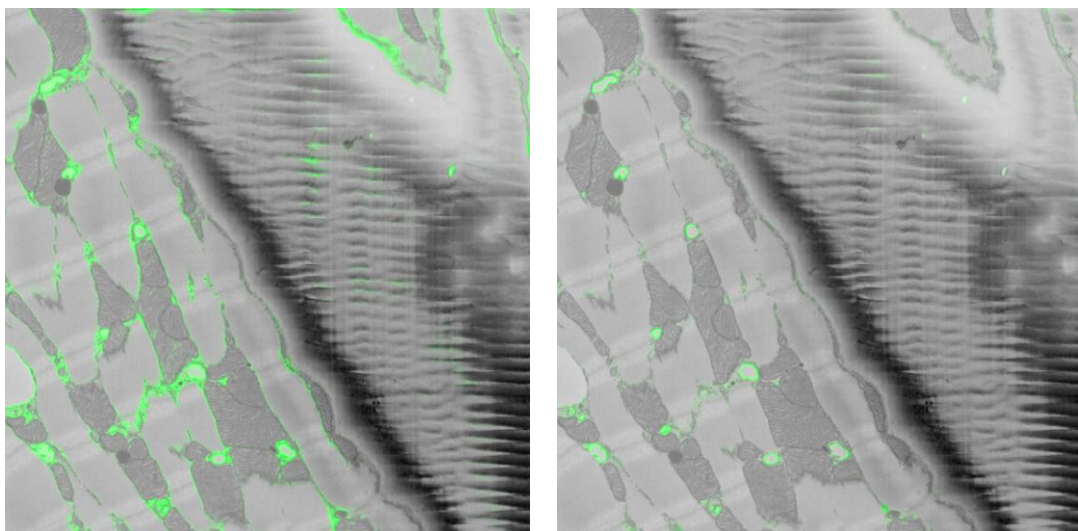


図 3.8 入力画像と境界の抽出結果を重ねた画像
緑色の濃い部分ほど抽出確率が高い. 順に学習反復回数 4000 回(左), 20000 回(右)

学習反復回数が 4000 回では T 管の境界は取れているものの、ミトコンドリアや細胞外領域といった T 管以外の境界も多く誤抽出しており、また T 管の内部まで抽出している部分がある。対して反復回数 20000 回では境界の誤抽出、および T 管の内部の抽出も 4000 回に比べ少なく、よく取れていることが見て取れる。

評価値について、図 3.9 に学習反復回数と F 値のグラフを示す。横軸が学習反復回数 (Iteration)、縦軸が各結果の最大となる F 値の平均値 (F-score) を表している。また図 3.10 に抽出結果を F 値が最大となる閾値で 2 値化し TP, FP, TN, FN に分類した画像を示す。

図中で白色が TP, 赤色が FP, 黒色が TN, 青色が FN である. 表 2 ではそれぞれの結果の TP, FP, TN, FN の 픽셀数を示す.

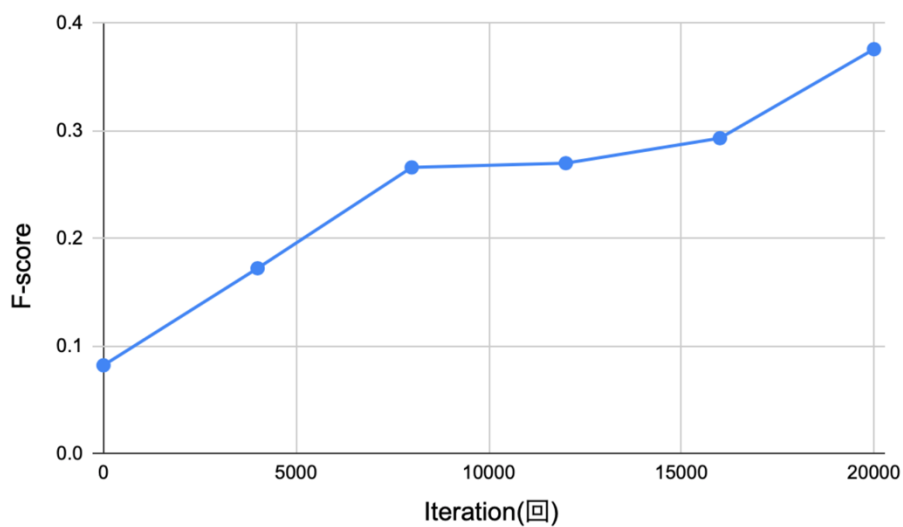


図 3.9 境界抽出結果の F 値と学種反復回数の関係

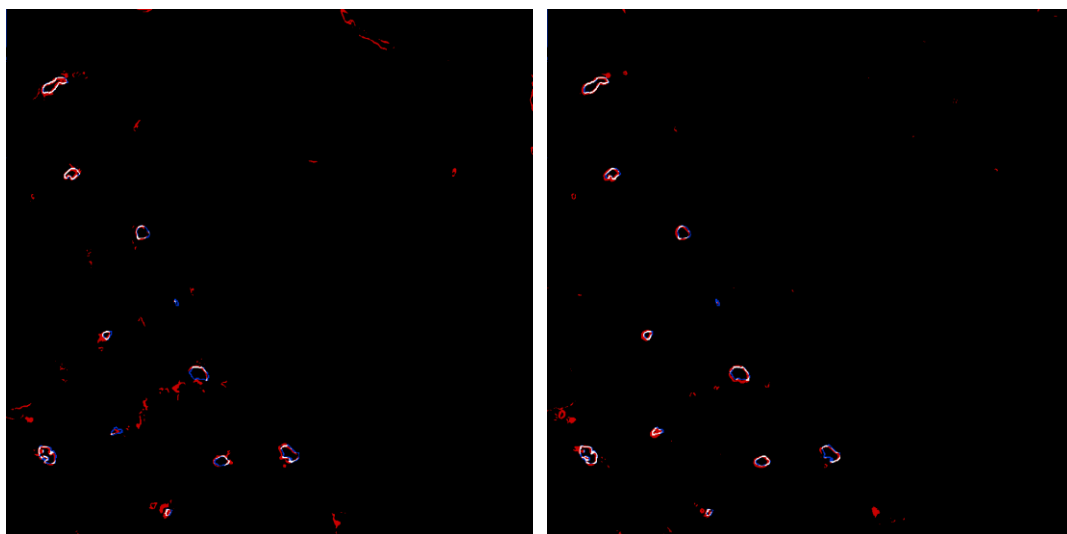


図 3.10 境界抽出結果を分類した画像
学習反復回数 4000 回の結果(左)と 20000 回の結果(右)

表 2 境界抽出結果の分類

	TP	FP	TN	FN
4000 回	1173	4975	1041180	1265
20000 回	1358	3714	1042423	1080

学習反復回数の増加に伴い F 値も増加傾向にあるが, 20000 回では 0.4 程度と低くなっている. 図 3.10 を見ると, 境界の総面積が非常に小さく正解ラベルでの境界の線が細いた

め、抽出結果の境界が少しでもずれるまたは線が太くなることで FP が多くなり、TP の数より FP の数が多くなることで F 値が小さくなると考えられる。実際に表 2 を見ると FP が TP よりも多いことがわかる。

分割処理において境界の誤抽出は分割結果には影響を与えないが、T 管の内部まで抽出している結果を分割処理に用いると核の識別がうまくいかないと考えられるため、T 管内部の抽出が比較的少ない 20000 回の結果が今回の抽出結果の中では適していると言える。また評価値が低い抽出結果を分割処理に用いることについて、小器官を個体ごとに分割するにあたり境界が切れていないことが重要であり、少しの境界のずれや太さの違いは問題にならないと考える。したがって今回の分割処理では反復回数が 20000 回の抽出結果を境界として用いる。また図 3.9 から学習反復回数を増やせば評価値がさらに上昇することが見込まれるが、それについては 4.2 項で後述する。

表 3 に学習反復回数 20000 回の境界抽出結果の小器官ごとの評価値を示す。再現率、適合率、F 値 IoU のそれぞれの平均値で評価する。

表 3 境界抽出結果の小器官ごとの評価値

	再現率	適合率	F 値	IoU
ミトコンドリア	0.551	0.246	0.339	0.204
筋原繊維	0.536	0.262	0.351	0.213
T 管	0.507	0.300	0.375	0.233

表 3 より小器官ごとに評価値に大きな差はなく、どの小器官も低いことがわかる。特に適合率が低い、すなわち誤抽出が多いことがわかる。この原因は上述の通り正解ラベルの境界の線が細いために起こると考えられ、図 3.11 にミトコンドリア、筋原繊維、T 管の抽出結果を F 値が最大となる閾値で 2 値化し TP, FP, TN, FN で分類した結果の一部を拡大して示す。図中で白色が TP, 赤色が FP, 黒色が TN, 青色が FN である。図を見ると正解ラベルと同じ場所を抽出できているにも関わらず、抽出結果の線が太いため TP の周りが FP として判断されている部分がある。また抽出結果の境界が正解ラベルとずれている場所では FP に加え FN も同時に増えるため再現率もあまり高くないと考えられる。

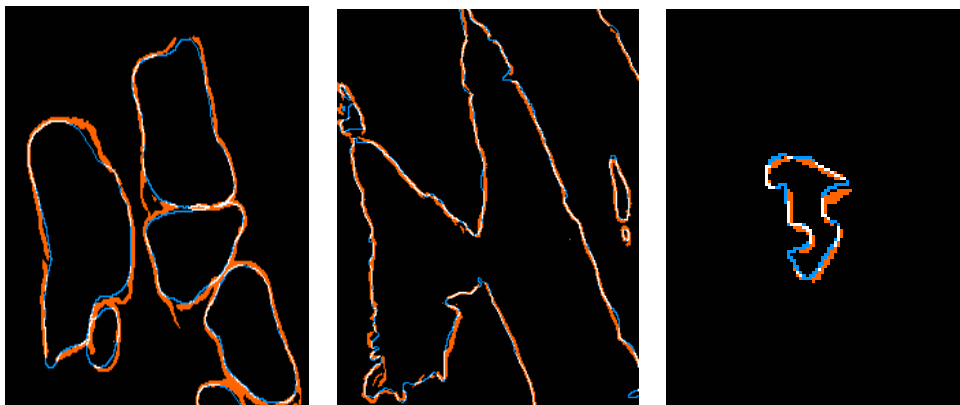


図 3.11 ミトコンドリア(左), 筋原線維(中), T 管(右)の境界抽出結果を分類した画像

3.2 分割処理

T 管の分割処理の結果の一例を図 3.12 に示す．また分割処理により作成された T 管モデルおよび先行研究[5]において手書きで作成されたモデルの T 管の個数，体積，体積率をそれぞれ表 4 に示す．

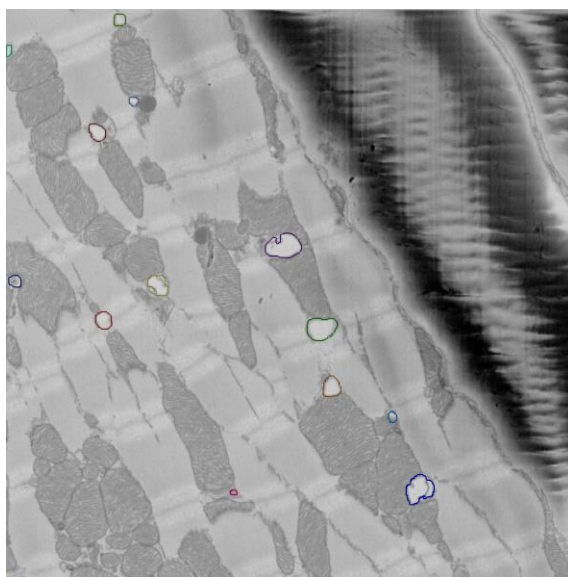


図 3.12 入力画像と分割処理結果を重ねた画像

表 4 T 管の個数，体積，体積率

	撮影範囲(μm^3)	個体数(個)	体積(μm^3)	体積率(%)
本研究	$14 \times 14 \times 12.6$	300	15.13	0.6126
先行研究[5]	$14 \times 14 \times 12.6$	64	34.71	1.4055

図 3.12 を見ると個体ごとに識別できていることがわかる．分割処理は小器官を個体ごと

に区別するために行われる処理であり，特に小器官同士が密接に隣り合っている場合に個体の識別がうまくいかないことがある．しかし T 管は個体間にある程度の距離があるため誤識別はほぼ起きず，3D モデルの再現度は分割処理ではなくセグメンテーションによる対象抽出の結果に大きく依存すると考えられる．

表 4 を見ると先行研究に比べ個体数が 4.7 倍程度多く，体積は約 0.44 倍となっている．個体数が多い主な原因として，セグメンテーションにおける細い T 管の抽出漏れがあり，それにより同一個体として識別されるべき T 管が別個体として識別される過分割が起きたためと考えられる．図 3.13 にその一例を示す．左図の赤い領域を拡大した画像が右図であり，右図の赤い丸部分が細い T 管の例である．

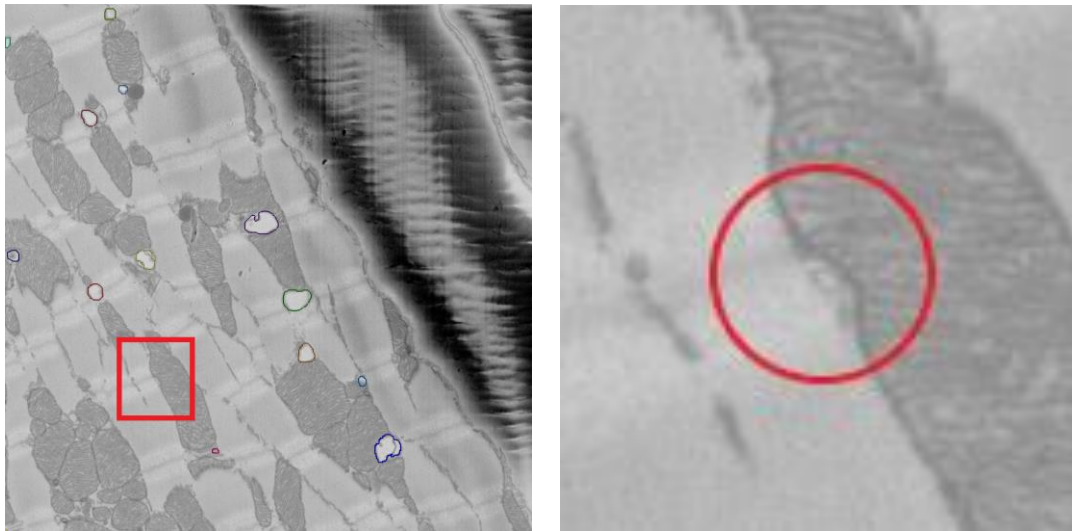


図 3.13 細い T 管の例

細い T 管の抽出漏れが起きると 3 次元方向でつながっている同じ個体として識別されるべきである T 管が過分割され，結果個体数が増える．図 3.14 にそのイメージを示す．このような非常に細い T 管は人間の目でも見落とす可能性があり，教師作成の際にいくつか見落としたために深層学習において抽出漏れが起きたと考えられる．また非常に面積が小さいためセグメンテーションにおいて評価値を大きく下げる要因にはならず，既存の評価値ではこの抽出漏れの検出が難しいということが考えられる．

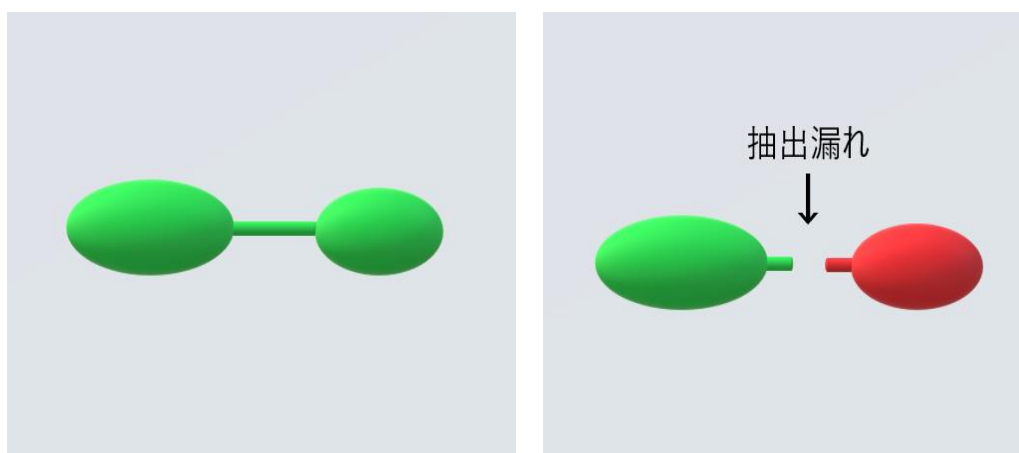


図 3.14 同一個体として識別されるべき T 管(左)と抽出漏れにより別個体として識別された T 管(右)のイメージ

また体積率が低いことについて、細い T 管の抽出漏れに加え、太い T 管内部の抽出漏れが原因の一つとして考えられる。その一例を図 3.15 に示す。図の T 管内部の赤い線で囲まれている領域が正しく抽出された領域、囲まれていない部分が抽出漏れが起きている領域である。図のように T 管内部に別の小器官が紛れ込むと、その小器官の周辺が T 管として認識されず抽出漏れが起きやすい。本研究では 35 枚の教師、学習反復回数 70000 回という条件で学習を行ったが、この教師数や学習回数といった学習におけるパラメータを最適なものに変えていくことでこの問題を解決できると考えられる。

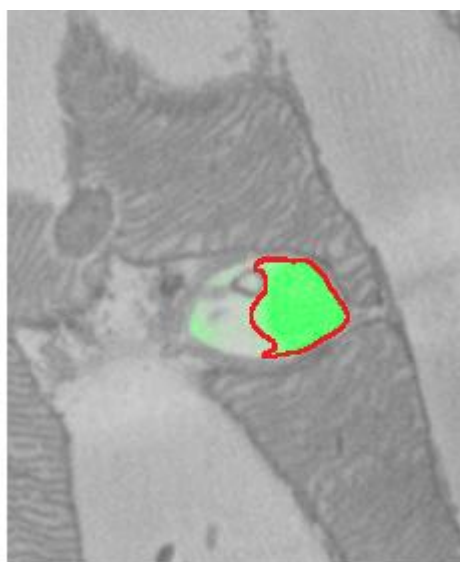


図 3.15 T 管内部の抽出漏れの例

4 結言

4.1 結論

横行小管の抽出にあたりマルチラベルのセグメンテーションを用いることの有用性を確認した。また横行小管の抽出結果を F 値やその個体数、体積率を用いて評価した。セグメンテーションにおける対象抽出では F 値 0.85 の精度で抽出できた。分割処理では先行研究に比べ個体数が 4.7 倍程度、体積率が 0.44 倍程度となり、セグメンテーションでの抽出漏れを減らしていく必要があることがわかった。

4.2 今後の課題と展望

本研究では対象抽出は学習反復回数 70000 回、境界抽出は 20000 回で行ったが、これ以上の学習反復回数で評価値が上がる可能性があった。加えて教師データセット数やラベル数といった学習条件を変えての学習を行うことで更なる抽出精度の向上が見込まれる。

また横行小管のモデルの作成まで行い、モデルを小器官の個数や体積率等の簡単な指標でのみ評価した。T 管の配向性や他の小器官との位置関係等による評価、またモデルを用いて実際に解析を行うことにより作成したモデルが解析に必要な精度を満たしているかが正しく評価できると考える。

今回は正常なマウスの心筋細胞の SEM 画像を用いたが、細胞の形態変化と心機能の低下の因果関係を調査する上では心疾患を患っている心筋細胞の SEM 画像を用いる必要がある。心疾患を患った心筋細胞をモデル化し、正常な心筋細胞のモデルとの比較を行うことでこの大きな目的の達成に大きく近づけると考える。

謝辞

本研究を進めるにあたり多くの方々にご指導，ご協力をいただきました。

波田野明日可講師には研究の進め方，着眼すべき点の具体的な助言等，研究全般にわたりご指導いただきました。心より感謝申し上げます。

泉聡志教授，榊間大輝助教には研究の進行度や方向性についての的確なアドバイスをいただきました。心より感謝申し上げます。

カリフォルニア大学サンディエゴ校の星島様には本研究のデータ元となる細胞の電子顕微鏡画像を提供していただきました。ありがとうございました。

本研究室の先輩方や同期生には様々な場面で助けていただきました。特に染谷さんには研究方針の相談や進捗の確認を何度もしていただきました。本当にありがとうございました。

最後に，生活面で支えてくれた友人や家族に感謝を申し上げて謝辞とさせていただきます。ありがとうございました。

2022 年 1 月 28 日

豊田 瑛

参考文献

- [1] A. Maloyan *et al.* , “Mitochondrial dysfunction and apoptosis underlie the pathogenic process in α -B-crystallin desmin-related cardiomyopathy, ” *Circulation*, vol. 112, no. 22, pp. 3451–3461, 2005.
- [2] E. A. Rog-Zielinska, E. T. O’Toole, A. Hoenger, and P. Kohl, “Mitochondrial Deformation During the Cardiac Mechanical Cycle, ” *Anat. Rec.* , vol. 302, no. 1, pp. 146–152, 2019.
- [3] C. H. T. Kong *et al.* , “Sub-microscopic analysis of t-tubule geometry in living cardiac ventricular myocytes using a shape-based analysis method, ” *J. Mol. Cell. Cardiol.* , vol. 108, pp. 1–7, Jul. 2017.
- [4] A. Hussain *et al.* , “An automated workflow for segmenting single adult cardiac cells from large volume serial block-face scanning electron microscopy data. ” *Journal of Structural Biology*, vol 202, pp. 275–285, 2018.
- [5] 田中宏明, ”心筋細胞画像からの実計上モデル自動作成手法の開発”, 東京大学, 2019.
- [6] M. G. Haberl *et al.* , “CDeep3M—Plug-and-Play cloud-based deep learning for image segmentation, ” *Nat. Methods*, vol. 15, no. 9, pp. 677–680, 2018.
- [7] 染谷誠, ”心筋細胞電子顕微鏡画像に基づく微細構造モデルの作成手法の開発”, 東京大学, 2020.
- [8] 小沢宏輔, ”心筋細胞電子顕微鏡画像に基づく機械学習を用いた筋原線維モデルの作成”, 東京大学, 2021.
- [9] 波田野明日可, ”心筋細胞の微細構造を考慮した電気生理・代謝・力学統合マルチフィジックスシミュレーション, ”東京大学, 2012.
- [10] M. Madany *et al.* , “NeuroKube—An Automated and Autoscaling Neuroimaging Reconstruction Framework using Cloud Native Computing and A. I. ” *IEEE International Conference on Big Data*, pp. 320–330, 2020.
-

[11] O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox, “U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation”, in Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics), vol. 9351, Springer Verlag, pp. 234–241, 2015.

以上

卒業論文

心筋細胞の SBEM 画像に基づく機械学習
を用いた横行小管モデルの作成

1p. – 42p. 完

2022 年 1 月 28 日提出

指導教員 波田野 明日可 講師

03-200216 豊田 瑛